

P R A C E O R Y G I N A L N E

położnictwo

Ocena wybranych wykładników morfologicznych zapalenia w popłodach z samoistnych porodów przedwczesnych

Evaluation of selected morphological markers of inflammation in afterbirth from idiopathic premature labors

Raba Grzegorz¹, Kotarski Jan²

¹ Oddział Ginekologii i Położnictwa Wojewódzkiego Szpitala w Przemyślu

² I Katedra i Klinika Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Streszczenie

Cel pracy: Ocena morfologicznych wykładników infekcji w tkankach popłodów z porodów przedwczesnych, w odniesieniu do objawów zakażenia u noworodków.

Materiał i metody: Grupa badana: 83 popłody po spontanicznych porodach odbytych pomiędzy 22 a 37 tygodniem ciąży. Grupa kontrolna: 30 popłodów po porodach o przebiegu fizjologicznym. Analizie histopatologicznej poddano łożyska z błonami pępowinowymi i sznurami pępowinowymi pochodzącymi z powyższych porodów a następnie zestawiono wyniki z występowaniem zakażeń u noworodków.

Oceniono: czułość, swoistość oraz wartość predykcyjną dodatnią i ujemną morfologicznych wykładników infekcji w popłodach, jako testu diagnostycznego w prognozowaniu wystąpienia zakażeń u noworodków.

Wyniki:

1. Morfologiczne wykładniki zapalenia popłodu stwierdzono u 28,9% kobiet rodzących przedwcześnie ($p < 0,05$).
2. Cechy zapalenia popłodu stwierdzano najczęściej w tkankach błon płodowych, oraz błon płodowych i łożysku.
3. PPROM wystąpił u 66,7% kobiet z morfologicznymi wykładnikami zapalenia popłodu, oraz u 23,7% rodzących przedwcześnie bez cech morfologicznych zapalenia popłodu ($p < 0,05$).
4. Zakażenie noworodka stwierdzono w 75% porodów z morfologicznymi wykładnikami zapalenia popłodu oraz w 5,1% porodów bez cech zapalenia popłodu ($p < 0,05$).
5. Przydatność potwierdzenia zapalenia popłodu w diagnostyce zakażeń noworodków: czułość – 85,7%, swoistość – 90,3%, wartość predykcyjna dodatnia – 75%, wartość predykcyjna ujemna – 94,9%.

Wnioski:

1. Zapalenie popłodu występuje w 28,9% wszystkich porodów przedwczesnych, przy czym odsetek ten wykazuje zróżnicowanie w zależności od wieku ciążowego od 84,2% w 22-28 tygodniu do 4,9% w 33-37 tygodniu ciąży.
2. Zmiany zapalne w popłodzie stwierdza się w 2/3 porodów przedwczesnych przebiegających z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych.
3. Stwierdzenie morfologicznych wykładników zapalenia popłodu posiada wysoką czułość (85,7%) i swoistość (90,3%) w prognozowaniu zakażenia noworodka.

Słowa kluczowe: **poród przedwczesny / zapalenie / zakażenie / noworodek /**

Adres do korespondencji:

Grzegorz Raba
Oddział Ginekologii i Położnictwa Wojewódzkiego Szpitala w Przemyślu
37-700 Przemyśl, ul. Monte Cassino 18
tel. 605 03 83 95
e-mail: g.raba@plusnet.pl

Otrzymano: 15.03.2010
Zaakceptowano do druku: 30.05.2010

Summary

Objective: To evaluate morphological markers of inflammation in afterbirth tissue from idiopathic premature labors, with regard to symptoms of infection in newborns.

Material and methods: Study group: 83 afterbirth specimens from spontaneous labors between 22 and 37 weeks gestation. Control group: 30 afterbirth specimens from physiological labors. The histopathological examination included evaluation of placenta with umbilical membranes and umbilical cords from the abovementioned labors; next the results were juxtaposed with the incidence of neonatal infections. The evaluation covered sensitivity, specificity, as well as the positive and negative predicative value of morphological markers in afterbirth infection as a diagnostic test for predicting the incidence of neonatal infections.

Results:

1. Morphological markers of afterbirth inflammation were reported in 28.9% of women giving premature birth ($p < 0.05$).
2. Features of afterbirth inflammation were most frequently observed in the fetal membranes, and in the fetal membranes and placenta.
3. Premature disruption of the fetal membranes occurred in 66.7% of women with morphological markers of afterbirth inflammation and in 23.7% of women giving premature birth with no features of afterbirth inflammation ($p < 0.05$).
4. Neonatal infection was reported in 75% of labors with morphological markers of afterbirth inflammation and in 5.1% of labors with no features of afterbirth inflammation ($p < 0.05$).
5. Usefulness of confirming afterbirth inflammation for diagnosing neonatal infections: sensitivity 85.7%, specificity 90.3%, positive predicative value 75%, negative predicative value 94.9%.

Conclusion:

1. Afterbirth inflammation occurs in 28.9% of all premature labors; however, the percentage differs depending on gestational age, from 84.2% in week 22-28 to 4.9% in week 33-37 of gestation.
2. Afterbirth inflammatory changes were reported in 2/3 of premature labors with premature disruption of the fetal membranes.
3. Identification of morphological markers of afterbirth inflammation has high sensitivity (85.7%) and specificity (90.3%) in predicting neonatal infections.

Key words: **premature birth, inflammation, neonatal, infection** /

Wstęp

Zmiany zapalne płodów spotyka się w 0,5% do 2% wszystkich ciąż zakończonych porodem o czasie [1].

Czynniki sprzyjające wystąpieniu tej patologii to głównie: czas trwania porodu, stany zapalne dolnego odcinka dróg rodnych, gorączka u matki lub uogólniona infekcja, pęknięcie błon płodowych więcej niż 12 godzin przed porodem [2].

W rozwoju tych zakażeń mają znaczenie następujące drogi zakażenia: a) wstępująca, b) krwionośna czyli przezłożyskowa.

Najczęstszym mechanizmem drogi wstępującej jest przedwczesne pęknięcie błon płodowych (PPROM) i tą drogą kolonizacja bakteryjna. Brakuje jednoznacznych dowodów czy PPRM jest przyczyną czy następstwem zakażenia [3]. Infekcja wstępująca najczęściej występuje w ciążach powikłanych PPRM [4]. Częstość występowania zapalenia płodu w ciążach powikłanych PPRM zmniejsza się wraz z zaawansowaniem ciąży [5].

Reakcji zapalnej towarzyszy uwalnianie aktywnych biologicznie mediatorów wywołujących skurcze mięśnia macicy, z których najsilniejszy efekt wywierają prostaglandyny. Siegel i wsp. zaobserwowali zależność pomiędzy aktywnością fosfolipazy A² i występowaniem porodów przedwczesnych u kobiet z zakażeniem wewnątrzmacicznym [6]. Fosfolipaza A² aktywuje reakcję kaskadową syntezy prostaglandyn, w następstwie czego wyzwalana jest czynność skurczowa mięśnia macicy.

Produkowana przez większość bakterii wywołujących zakażenia wewnątrzmaciczne egzotoksyna A² także działa silnie naskurczowo na mięśnie gładkie, macicy oraz naczyń krwionośnych, ponadto odpowiedzialna jest za hamowanie biosyntezy białek i desynchronizację procesów oddechowych w mitochondriach.

Chmielnicka-Kopaczyk i wsp. wyróżnili 4 postacie kliniczne zakażenia wewnątrzmacicznego [5]:

1. Cechy zakażenia mogą być obecne zarówno w łożysku jak i u płodu.
2. Przy zakażeniu łożyska brak zainfekowania płodu.
3. Zakażenie płodu bez cech morfologicznych łożyska wskazujących na infekcję.
4. Brak wykładników zakażenia zarówno w łożysku jak i u płodu, pomimo klinicznie udokumentowanej infekcji z bakteriami lub wirusami u matki.

Wczesne rozpoznanie infekcji w przebiegu porodu przedwczesnego jest ważnym i trudnym problemem diagnostyczno-terapeutycznym. W pełni uzasadnione są poszukiwania zmierzające do wyjaśnienia mechanizmów tego powikłania.

Cel pracy

Celem pracy była ocena morfologicznych wykładników infekcji w tkance łożysk, błon płodowych oraz sznurów pępowinowych pochodzących z ciąż ukończonych samoistnym porodem przedwczesnym pomiędzy 22 i 37 tygodniem ciąży, w odniesieniu do objawów klinicznych oraz biochemicznych markerów zakażenia u noworodków.

Materiał i metodyka

Grupę badaną stanowiły 83 płody po spontanicznych porodach odbytych pomiędzy 22 a 37 tygodniem ciąży, z nieobciążonym wywiadem zdrowotnym, bez współistniejących schorzeń oraz niewykazujących klinicznych i biochemicznych objawów infekcji.

Charakterystyka kliniczna:

1. Wiek: 17-38 lat.
2. Rodność: od 1 do 4.
3. Wiek ciążowy w momencie porodu:
 - a. 22 – 28 tygodni - 19 kobiet (22,9%),
 - b. 29 – 32 tygodnie - 23 kobiety (27,7%),
 - c. 33 -37 tygodnie - 41 kobiet (49,4%).

Grupę kontrolną stanowiły popłody uzyskane od 30 kobiet po porodach o przebiegu fizjologicznym zakończonych urodzeniem zdrowego noworodka.

Grupę kontrolną wyodrębniono losowo spośród kobiet rodzących spełniających kryterium: wiek tożsamy z grupą badaną, poród fizjologiczny pomiędzy 38-42 tygodniem ciąży, nieobciążony wywiad zdrowotny, brak czynników ryzyka zakażenia podczas porodu.

Ocenie histopatologicznej poddano wszystkie łożyska wraz z błonami pępowinowymi i sznurami pępowinowymi pochodzącymi z powyższych porodów przedwczesnych (grupa badana) oraz pochodzącymi z porodów o przebiegu fizjologicznym (grupa kontrolna).

Metodyka badań morfologicznych

Po urodzeniu i odpepnieniu noworodka nie klemowano wolno zwisającej pępowiny, aby umożliwić swobodne wypłynięcie zalegającej krwi płodowej z łożyska. Popłody po wykonaniu dwóch nacięć umieszczano w 10% roztworze formaliny. Po 7-10 dniach utrwalania przeprowadzono badania mikroskopowe, krojąc łożysko na plastry szerokości ok. 1cm. Następnie pobierano wycinki – zwykle 5 wycinków z łożyska, 2 z pępowiny (po jednym z obu końców) i jeden z błon płodowych pozałożyskowych. Preparaty barwiono hematoksyliną-eozyną.

Za kryterium rozpoznania zapalenia popłodu przyjęto łączne występowanie:

1. Obecności nacieków granulocytarnych w elementach popłodu.
2. Zmian tkanek łożyska o charakterze krwiopochodnym prowadzących do zmniejszenia powierzchni wymiany łożyskowej (kryteria wg Kelly i wsp.: zwężenia płodowych naczyń włosowatych kosmka lub naczyń maczynych, przerwanie ciągłości ścian naczyń i mikrowylewy, brak fizjologicznej konwersji naczyń spiralnych) [7].

Za kryterium rozpoznania pełnoobjawowego zakażenia u wcześniaków przyjęto łączne występowanie:

1. Manifestacja co najmniej jednego klinicznego objawu zakażenia (podwyższona ciepłota, tachykardia, niechęć do przyjmowania pokarmów, nieprawidłowe napięcie mięśniowe, apatia).
2. Poziom interleukiny 6 (IL-6) powyżej 100pg/ml i/lub prokalcytoniny (PCT) powyżej 5ng/ml oznaczane metodą immunochemii, w dwóch kolejnych badaniach z surowicy krwi noworodka w odstępie 1 godziny.

Oceniono: czułość, swoistość oraz wartość predykcijną dodatnią i ujemną morfologicznych wykładników infekcji w popłodach, jako testu diagnostycznego pomocnego w prognozowaniu wystąpienia zakażeń u noworodków.

Analizę zgodności cech przeprowadzono za pomocą testu χ^2 . Za istotny statystycznie przyjęto poziom: $p < 0,05$.

Wyniki*Częstość występowania zapaleń popłodu u kobiet rodzących przedwcześnie*

Ogółem wśród 83 kobiet rodzących przedwcześnie morfologiczne wykładniki zapalenia popłodu stwierdzono u 24 co stanowi 28,9% ($p < 0,05$). W grupie kontrolnej u żadnej kobiety nie stwierdzono zmian morfologicznych spełniających przyjęte kryterium rozpoznania zapalenia popłodu. (Tabela I).

Umiejscowienie zmian zapalnych w tkankach popłodów u kobiet rodzących przedwcześnie

Histologiczne cechy zapalenia popłodu stwierdzano najczęściej w tkankach błon płodowych, oraz jednocześnie: błon płodowych i łożysku. Izolowane nacieki granulocytarne w łożysku występowały statystycznie istotnie rzadziej. Nie stwierdzono izolowanych nacieków leukocytarnych w sznurze pępowinowym. W 3 przypadkach naciekom w sznurze pępowinowym towarzyszyły nacieki w tkankach łożyska oraz błonach płodowych. (Tabela II, rycina 1 i 2).

Częstość występowania pełnoobjawowych zakażeń noworodków u kobiet rodzących przedwcześnie

Ogółem wśród 83 kobiet rodzących przedwcześnie pełnoobjawowe zakażenie noworodka stwierdzono u 21 co stanowi 25,3% ($p < 0,05$). W grupie kontrolnej nie stwierdzono infekcji u noworodków. (Tabela III).

Zakażenia noworodków występowały statystycznie istotnie częściej w grupie a.

Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy częstością występowania zakażeń pomiędzy grupą b oraz c.

Współistnienie zapalenia popłodu i pełnoobjawowych zakażeń noworodków

Wśród 24 kobiet z morfologicznymi wykładnikami zapalenia popłodu, pełnoobjawowe zakażenie noworodka stwierdzono u 18 kobiet (75%). W grupie pozostałych 59 rodzących przedwcześnie bez cech morfologicznych zapalenia popłodu, zakażenie noworodka rozpoznano u 3 (5,1%) $p < 0,05$.

*Przydatność histopatologicznego potwierdzenia zapalenia popłodu w diagnostyce zakażeń noworodków. (Tabela IV).**Współistnienie zapalenia popłodu i PPRM*

W grupie badanej PPRM wystąpił u 30 (46%) rodzących przedwcześnie, z czego u 16 (66,7%) wśród 24 kobiet z morfologicznymi wykładnikami zapalenia popłodu, oraz u 14 (23,7%) spośród 59 rodzących przedwcześnie bez cech morfologicznych zapalenia popłodu.

Dyskusja

Badanie obecności wykładników morfologicznych zapalenia w tkankach popłodów po porodach przedwczesnych jest istotne w diagnostyce zakażeń wewnątrzmacicznych, których rozpoznanie często stanowi problem kliniczny. Problem ten wynika z odmienności reakcji noworodka na zakażenie, gdzie wielokrotnie reakcja zapalna przebiega w odmienny sposób od znanego nam z patologii dorosłego [8].

Tabela I. Częstość występowania zapaleń popłodu w odniesieniu do wieku urodzeniowego.

Liczebność	Wiek urodzeniowy	Zapalenie popłodu		Analiza statystyczna		
		N	%	a. vs b.	a. vs c.	b. vs c.
a. 19	22-28 tyg.	16	84,2	p<0,05	p<0,05	p<0,05
b. 23	29-32 tyg.	6	26,1			
c. 41	33-37 tyg.	2	4,9			

Tabela II. Umieszczenie nacieków granulocytarnych w poszczególnych elementach popłodu pochodzących z samoistnych porodów przedwczesnych.

Element popłodu	Porody przedwczesne z obecnością nacieków zapalnych		Analiza statystyczna (Prob > z)		
	N	%	II. vs III	I. vs II,III	IV. vs II,III
I. Łożysko	4	16,7	p>0,05	p<0,05	p<0,05
II. Błony	9	37,5			
III. Łożysko+ Błony	8	33,3			
IV. Łożysko+ Błony+ Sznur pępowinowy	3	12,5			
Łącznie	24	100			

Tabela III. Częstość występowania pełnoobjawowych zakażeń noworodków, w grupach wieku urodzeniowego.

Grupy wieku urodzeniowego	Wiek urodzeniowy	Zakażenie noworodka		Analiza statystyczna (Prob > z)		
		N	%	a. vs b.	a. vs c.	b. vs c.
a. (19 kobiet)	22-28 tyg.	13	68,4	p<0,05	p<0,05	p>0,05
b. (23 kobiety)	29-32 tyg.	3	13,0			
c. (41 kobiet)	33-37 tyg.	5	12,1			

Według Greskova i wsp. złożoność mechanizmów i następstw zakażenia u noworodka warunkowana jest szeregiem czynników. W przeciwieństwie do rozwoju zmian zapalnych w popłodzie, przebiegających w sposób typowy dla przebiegu zapalenia, u płodu o formach reakcji na zakażenie decydują: rodzaj czynnika zakaźnego, mechanizmy immunologiczne, dojrzałość morfologiczna i czynnościowa komórek biorących udział w odczynie zapalnym, rodzaj tkanki w której toczy się proces zapalny oraz reakcje chemiczne, humoralne i nerwowe.

U płodu spotykamy stałą zmienność podłoża morfologicznego i czynnościowego w przebiegu rozwoju, dlatego odczyny na uszkodzenie nawet przez ten sam czynnik mogą być różne w poszczególnych okresach rozwojowych [9]. Dlatego w pracy zamiast terminu „wpływu” zapalenia popłodu na różne stany kliniczne, posługujemy się terminem „współistnienie” morfologicznych wykładników zapalenia popłodu, który w sensie patomorfologicznym jest bardziej precyzyjny.

Rozpoznanie zakażeń wewnątrzmacicznych nadal stanowi istotny problem. Dlatego wielu badaczy koncentruje się na poszukiwaniu swoistych, czułych markerów wskazujących na istnienie tej patologii.

Tabela IV. Przydatność histopatologicznego potwierdzenia zapalenia popłodu w diagnostyce zakażeń noworodków.

Rodzaj wskaźnika	%
Czułość	85,7
Swoistość	90,3
Wartość predykcyjna dodatnia	75
Wartość predykcyjna ujemna	94,9

W badaniu wykazano, że histopatologiczne potwierdzenie morfologicznych wykładników zapalenia popłodu jest czułym (85,7%) i swoistym (90,3%) testem diagnostycznym pozwalającym przewidzieć wystąpienie pełnoobjawowego zakażenia noworodka. Wadą tego badania jako testu diagnostycznego jest możliwość wykonania go dopiero po rozwiązaniu ciąży.

Ocena wybranych wykładników morfologicznych zapalenia w popłodach...

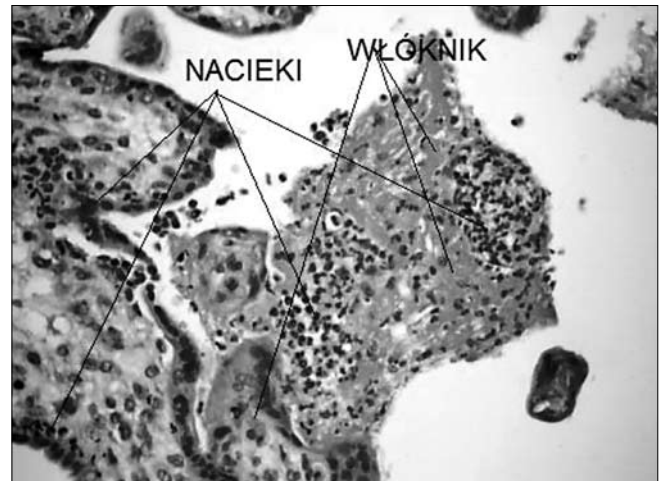
W przypadku ciężkich postaci zakażeń wewnątrzmacicznych objawy kliniczne manifestują się u noworodka bezpośrednio po porodzie, wówczas histopatologiczne rozpoznanie zapalenia popłodu nie ma dużego znaczenia dla postępowania medycznego. Jednak przy zakażeniach noworodków przebiegających skąpoobjawowo, uzyskanie potwierdzenia zapalenia popłodu może mieć znaczenie kliniczne.

Poszukując markerów zakażenia noworodków, Mazaki-Tovi i wsp. wykazali przydatność oznaczeń visfatyny – będącej fizjologicznym składnikiem płynu owodniowego, której stężenie wzrasta wraz z dojrzewaniem ciąży. Przy współistnieniu zakażenia wewnątrzmacicznego poziom visfatyny wzrasta bez względu na stan ciągłości błon płodowych, co sugeruje że bierze udział w reakcjach odpornościowych [10]. Duże nadzieje na odkrycie swoistych markerów zakażenia wewnątrzmacicznego dają wstępne wyniki badań poziomu hemokina u kobiet ciężarnych. Hamill i wsp. udowodnili że hemokina CCL20 określana także MIP-3 alpha, która bierze udział w procesie chemotaksji niedojrzałych komórek dendrytycznych, limfocytów T efektorowych i pamięci oraz limfocytów B, istotnie wzrasta podczas zakażenia wewnątrzmacicznego [11].

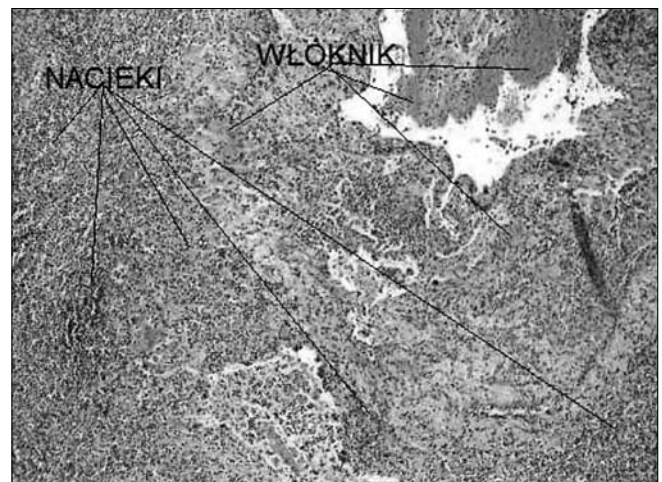
Niestety ograniczeniem w diagnostyce jest jej fizjologiczny wzrost w przypadku rozpoczynającego się porodu (zarówno przedwczesnego jak i w terminie), podczas gdy klinicznie najczęściej podejrzenie zakażenia wewnątrzmacicznego pojawia się przy spontanicznej czynności skurczowej mięśnia macicy. Podobne kliniczne ograniczenie diagnostyczne posiada pomiar stężenia insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1), który wzrasta przy zakażeniu wewnątrzmacicznym, ale tylko w ciążach donoszonych. W przypadku porodów przedwczesnych jej poziom pozostaje niezmienny [12]. Ostatecznie małą przydatnością kliniczną w diagnozowaniu zakażeń wewnątrzmacicznych wykazały się także pomiary stężeń activiny A, z którą wiązano pewne nadzieje [13].

W przeprowadzonym badaniu w 75% ciąż z rozpoznaniem zapaleniem popłodu stwierdzono pełnoobjawowe zakażenie wewnątrzmaciczne noworodka. Odsetek zakażeń skąpoobjawowych (nie spełniających jednocześnie kryterium laboratoryjnego i klinicznego) był jeszcze wyższy. Tak więc zapalenie popłodu należy uznać za stan kliniczny o bardzo wysokim prawdopodobieństwie wystąpienia zakażenia u noworodka. Jest to zgodne z badaniami Soto i wsp. którzy wykazali istotnie wyższe stężenia czynników dopełniacza C3a, C4a i C5a (wykładników zakażenia) w płynie owodniowym kobiet rodzących przedwześnie, u których występowały zmiany zapalne w popłodach [14].

W przebiegu analizowanych porodów przedwczesnych zapalenie popłodu stwierdzano tym częściej, im niższy był wiek ciążowy, w którym nastąpił poród. Może to sugerować odmienną etiologię porodów przedwczesnych w ciążach pomiędzy 22-28 tygodniem ciąży (znaczną przewagę czynników zapalnych), a 33-37 tygodniem ciąży (wykładniki zapalenia obecne jedynie w 4,9% przypadków). Podobnie zakażenia noworodków występowały statystycznie istotnie częściej w grupie rodzących pomiędzy 22-28 tygodniem. Natomiast nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy częstością występowania zakażeń noworodków wśród rodzących przedwześnie w wieku ciążowym powyżej 28 tygodnia. (Tabela III, grupa b oraz c).



Rycina 1. Nacieki granulocytarne w łożysku oraz zmiany o charakterze złośliwym (złogi włóknika).



Rycina 2. Nacieki granulocytarne w błonach płodowych.

U rodzących przedwześnie, u których stwierdzono zapalenie popłodu w 66,7% dochodziło do PPRM. Jest to zależność dobrze znana, jednak nie ma dowodów czy zapalenie popłodu jest przyczyną PPRM, czy też może skutkiem przerwania ciągłości błon płodowych.

Wnioski

1. Zapalenie popłodu występuje średnio w 28,9% wszystkich porodów przedwczesnych, przy czym odsetek ten wykazuje zróżnicowanie w zależności od wieku ciążowego od 84,2 % w 22-28 tygodniu do 4,9% w 33-37 tygodniu ciąży.
2. Zmiany zapalne w popłodzie stwierdza się w 2/3 porodów przedwczesnych przebiegających z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych.
3. Stwierdzenie morfologicznych wykładników zapalenia popłodu posiada wysoką czułość (85,7%) i swoistość (90,3%) w prognozowaniu zakażenia noworodka

Piśmiennictwo

1. Martinez F, Lopez-Arregui E. Infection risk and intrauterine devices. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2009, 88, 246-250.
2. Carbonell-Estrany X, Figueras-Aloy J, Salcedo-Abizanda S, [et al.]. Probable early-onset group b streptococcal neonatal sepsis: A serious clinical condition related to intrauterine infection. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2008, 93, 85-89.
3. Czajka R, Kwiatkowski S, Chlubek D, [et al.]. The assessment of neutrophil elastase measurements usefulness in pregnant women with premature rupture of fetal membranes and chorioamnionitis suspicion. *Ginekol Pol.* 2009, 80, 19-24. Polish.
4. Łukaszewski T, Barlik M, Seremak-Mrozikiewicz A, [et al.]. Polymorphism in the genes of toll-like receptors type 2 and type 4 (tlr-2 and tlr-4) and the risk of premature rupture of the membranes-preliminary study. *Ginekol Pol.* 2009, 80, 914-919. Polish.
5. Chmielnicka- Kopaczyk M, Gabryel P, Jasiński P. Analiza umieralności okołoporodowej płodów i noworodków. Red. Stomko Z, Gadzinowski J. *Klin Perinat Ginek.* Poznań, 1993, 4, 170-186.
6. Siegel J, McCracken G. Sepsis neonatorum. *N Engl J Med.* 1981; 304, 642-647.
7. Kelly R, Holzman C, Senagore P, [et al.]. Placental vascular pathology findings and pathways to preterm delivery. *Am J Epidemiol.* 2009, 170, 148-158.
8. Rucka A. Poznań: Pam. I Konf. Nauk. Sekcji Med. *Piernat.* 1969, 173.
9. Greksova K, Parrak V, Chovancova D, [et al.]. Procalcitonin, neopterin and c-reactive protein in diagnostics of intrauterine infection and preterm delivery. *Bratisl Lek Listy.* 2009, 110, 623-626.
10. Mazaki-Tovi S, Romero R, Kusanovic J, [et al.]. Visfatin/pre-b cell colony-enhancing factor in amniotic fluid in normal pregnancy, spontaneous labor at term, preterm labor and prelabor rupture of membranes: An association with subclinical intrauterine infection in preterm parturition. *J Perinat Med.* 2008, 36, 485-496.
11. Hamill N, Romero R, Gotsch F, [et al.]. Exodus-1 (CCL20). Evidence for the participation of this chemokine in spontaneous labor at term, preterm labor, and intrauterine infection. *J Perinat Med.* 2008, 36, 217-227.
12. Oświecimska J, Stojewska M, Behrendt J, [et al.]. Effect of intrauterine infection and perinatal risk factors on serum concentrations of insulin like growth factor (IGF-1) in full-term and preterm newborns. *Neuro Endocrinol Lett.* 2008, 29, 222-229.
13. Hodges R, Salvador L, D'Antona D, [et al.]. Activin A as a marker of intrauterine infection in women with preterm prelabour rupture of membranes. *J Perinatol.* 2010, 30, 22-26.
14. Soto E, Romero R, Richani K, [et al.]. Evidence for complement activation in the amniotic fluid of women with spontaneous preterm labor and intra-amniotic infection. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009, 22, 983-992.